

使用に際してはこの添付文書をよくお読みください。
また、必要なときに読めるように保管しておいてください。

G B 0 9 T

体外診断用医薬品

製造販売承認番号：20400AMZ01008000

* 2013 年 5 月改訂（第 2 版）

2006 年 3 月作成（第 1 版）

ヒト T 細胞白血病ウイルス I 抗体確認キット

プロブロット® HTLV-I

血清および血漿中の HTLV- I 特異抗体検出用

■重要な基本的注意

本品の抗原転写ニトロセルロース膜に転写されているエンベロープタンパク（gp46）は、判定を容易にする目的で、他の抗原特異タンパクのバンドと重ならないよう、ギャグタンパク（p53）より高分子量側に転写されております。

■全般的な注意

1. 本試薬は体外診断用であるため、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 本試薬はスクリーニングで陽性と判定された検体について使用してください。
3. 本試薬で HTLV-I 抗体が陽性と判定されてもただちに成人 T 細胞白血病（ATL）あるいは HAM（HTLV-I associated myelopathy）であるとは診断できません。ATL あるいは HAM の診断にあたっては、他の検査法（血液形態学的検査法、血清学的検査法など）を実施し、さらに臨床症状を加味して総合的に判断してください。
4. 添付文書以外の使用方法については保証を致しません。
5. キット内の対照用陽性血清、対照用弱陽性血清および対照用陰性血清に用いられている原料血液は、HBs 抗原、HIV 抗体および HCV 抗体検査を行い、陰性の結果を得ていますが、感染の危険性があるものとして、検体同様十分に注意して取扱ってください。
- * 6. 本試薬および検体は、感染の危険性があるものとして十分に注意して取扱ってください。
7. 本試薬には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

■形状・構造等（キットの構成）

No.	構成試薬	性 状	規 格	備 考
1	血清希釈用液	液 状	50mL×1本	
2-1	対照用強陽性血清	液 状	0.25mL×1本	
2-2	対照用弱陽性血清	液 状	0.25mL×1本	
2-3	対照用陰性血清	液 状	0.25mL×1本	
3	抗原転写ニトロセルロース膜	シート状	14ストリップ×2枚	HTLV-I 抗原特異タンパク転写ストリップで、少なくとも p19、p24、p53 および gp46 が転写されています。
4-1	ビオチン標識抗ヒト IgG 抗体	凍結乾燥	24mL用×2本	ビオチン標識抗ヒト IgG 抗体（ウサギ）を 1.25 μg/mL（調製時）含みます。
4-2	POD 標識アビジン	凍結乾燥	24mL用×2本	ペルオキシダーゼ標識アビジンを 2.5 μg/mL（調製時）含みます。
5	洗浄用濃縮液	濃 縮 液	125mL×2本	
6	発色用液	液 状	8mL×2本	4-クロロ-1-ナフトールを 1.8mg/mL 含みます。
7	基 質 液	液 状	16mL×2本	

この他に精製水を 1.2L 用意してください。（洗浄用濃縮液の希釈および洗浄に用います。）

■使用目的

血清及び血漿中の HTLV-I 特異抗体の検出

■測定原理

プロブロット HTLV-I はウエスタンブロット（WB）法を応用した HTLV-I 特異抗体検出用の試薬です。本試薬の HTLV-I 抗原タンパクは、不活化ウイルス成分を SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により分子量分離し、ニトロセルロース膜上に電氣的に転写したもので、p19、p24、p53、gp46 の各

タンパクを含んでいます。これに検体を反応させると、HTLV-I 抗体が存在すれば、各タンパク毎に抗原-抗体複合体がニトロセルロース膜上に形成されます。この複合体をビオチン標識した抗ヒト IgG 抗体によって捕え、さらにアビジン-ビオチンの結合力を利用してペルオキシダーゼ（POD）標識アビジンを付加後、4-クロロ-1-ナフトール/H₂O₂ の発色系により発色させますと、ニトロセルロース膜上のバンドとして HTLV-I 抗原特異タンパクに対する抗体が検出できます。

本試薬は、下記の特徴を有します。

- 1) HTLV-I 抗原特異タンパク毎の抗体を検出できます。
- 2) HTLV-I 抗原タンパクは十分精製されたものを使用しており、特異性に優れています。また、シャープなバンドの発色が得られ、判定が容易です。
- 3) 再現性のよい HTLV-I 抗体の測定が可能です。
- 4) 本品は WHO 推奨の基準による判定が可能です。

■操作上の注意

1. 測定検体の性質、採取法

- 1) 検体には血清または血漿を使用してください。
- 2) 検体の採取時、検体相互の汚染を防ぐために各検体毎に新しいチップを使用してください。

2. 妨害物質・妨害薬剤

検体にビリルビン、ヘモグロビンを添加して試験した結果、それぞれ 57.6 mg/dL、900 mg/dL まで影響は認められませんでした。また、乳びに関しても、4260 濁度まで影響は認められませんでした。

3. 操作上の留意事項

- 1) 本試薬の使用に際して機器を用いる場合は、その取扱説明書に従って使用してください。
- 2) 抗原転写ニトロセルロース膜の取扱いは、直接手指などが触れないように注意し、よく洗浄したピンセットなどを使用してください。また、測定中の抗原転写のニトロセルロース膜は乾燥させないように注意してください。
- 3) 反応終了後の抗原転写ニトロセルロース膜を保存する場合、遮光して 2～10℃ に保管してください。
- 4) ビオチン標識抗ヒト IgG 抗体および POD 標識アビジンは、原則として調製当日に使用してください。保存する場合には異物が混入しないようにシーリングフィルム等で封をし、2～10℃（遮光）で保存した後、7 日以内に使用してください。また、対照試験を必ず実施し、対照用強陽性血清、対照用弱陽性血清および対照用陰性血清の反応を確認してください。
- 5) 発色用液と基質液を混合し調製した後は保存できませんので、必要量のみ調製してください。

■用法・用量（操作方法）

* 試薬は常温（15～25℃）に戻してから使用してください。

1. 試薬の調製法

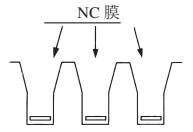
- 1) 抗原転写ニトロセルロース膜（測定法欄説明中、NC 膜と略す）そのまま使用します。直接手指に触れないよう注意し、よく洗浄したピンセットなどで切り取ってください。また、測定中は乾燥させないように注意してください。
- 2) ビオチン標識抗ヒト IgG 抗体
洗浄液を 24 mL 加えて調製します。調製済みビオチン標識抗ヒト IgG 抗体は、2～10℃（遮光）保存で 7 日間は安定ですが、原則として調製当日に使用してください。
- 3) POD 標識アビジン
洗浄液を 24 mL 加えて調製します。調製済み POD 標識アビジンは、2～10℃（遮光）保存で 7 日間は安定ですが、原則として調製当日に使用してください。
- 4) 洗浄用濃縮液
精製水で 4 倍に希釈したものを洗浄液とします。また、ビオチン標識抗ヒト IgG 抗体と POD 標識アビジンの調製液としても使用します。
- 5) 発色用液、基質液
使用直前に基質液を発色用液の 2 倍量加えて調製し、発色液とします。発色液は調製後に保存できませんので、必要量のみを調製してください。
- 6) 血清希釈用液、対照用強陽性血清、対照用弱陽性血清、対照用陰性血清はそのまま使用してください。

2. 必要な器具・器材

- 1) メスシリンダー（1,000 mL、50 mL 用）
- 2) マイクロピペット（50 μL 用）およびチップ（必要数）
- 3) 分注器（1.5 mL および 2 mL 用）
- 4) アスピレーター（トラップ付き）
- 5) 水平振盪器（ローテーター）
- 6) ピンセット
- 7) ガラス板（判定用）
- 8) プロブロット用のトレイ（別売）

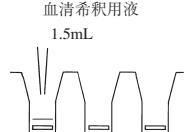
3. 測定法

1) NC膜セット



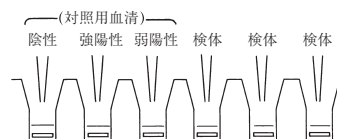
NC膜をピンセットなどで切り取り、プロット用トレイに番号が表になるように入れます。

2) 血清希釈液分注



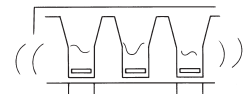
NC膜を入れた各反応溝に血清希釈液を、1.5mL加えます。この時、NC膜に血清希釈液が良くしみ込み沈んでいることを確認してください。

3) 検体などの分注 (50 μ L)



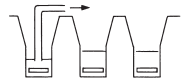
各反応溝に対照用血清(陰性、強陽性、弱陽性)および検体を図のように50 μ Lずつ加えます。

4) 振盪 (1時間/20~30℃)



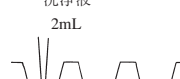
外蓋をかけ20~30℃で1時間ローテーターで軽く振盪させます。この時内容物が飛び散らないよう注意してください。

5) 洗浄A



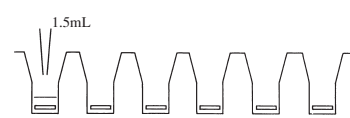
反応液をアスピレーターなどで吸引除去します。この時トラップ付のものをご使用ください。

6) 洗浄B



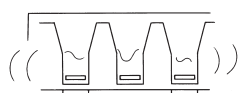
洗浄操作：各反応溝に洗浄液2mLを加え反応終了後のNC膜を軽く振盪し、すぐに洗浄液を吸引除去します。その後各反応溝に再度洗浄液2mLを加え5分間振盪した後に洗浄液を吸引除去します。この洗浄操作を2回繰り返します。この洗浄操作は測定結果に重要な影響を及ぼしますので確実に行ってください。

7) ビオチン標識抗ヒトIgG抗体分注



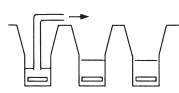
ビオチン標識抗ヒトIgG抗体を各反応溝に、1.5mLずつ加えます。

8) 振盪 (1時間/20~30℃)



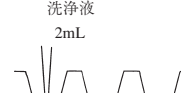
外蓋をかけ20~30℃で1時間ローテーター上で4)と同様に振盪してください。

9) 洗浄A



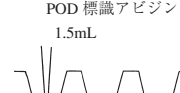
5)と同様に反応液を吸引除去します。

10) 洗浄B



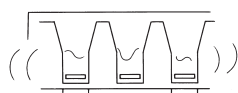
6)と同様に洗浄操作を2回繰り返します。

11) POD標識アビジン分注



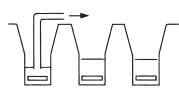
POD標識アビジンを各反応溝に1.5mLずつ加えます。

12) 振盪 (1時間/20~30℃)



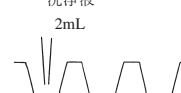
外蓋をかけ20~30℃で1時間ローテーターで4)と同様に振盪してください。

13) 洗浄A



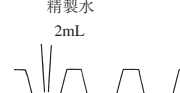
5)と同様に反応液を吸引除去します。

14) 洗浄B



6)と同様に洗浄操作を2回繰り返します。

15) 洗浄C



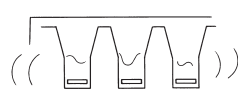
洗浄液の除去のために精製水2mLを加え軽く振盪後吸引除去します。さらに精製水2mLを加え5分間振盪後吸引除去します。

16) 発色液分注



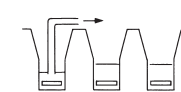
各反応溝に発色液を1.5mLずつ加えます。

17) 振盪 (約10分/20~30℃)



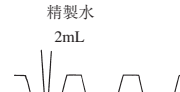
外蓋をかけ20~30℃で、約10分間ローテーター上軽く振盪させます。

18) 洗浄A



5)と同様に反応液を吸引除去します。

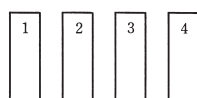
19) 洗浄C



精製水で15)と同様に洗浄操作を行い反応を停止させます。

20) 判定

(対照用血清)
陰性 強陽性 弱陽性 検体



NC膜をガラス板上に図のように並べ、発色強度を反応終了後15分以降18時間以内に判定してください。

4. 対照試験

検査毎に対照用陰性血清、対照用強陽性血清および対照用弱陽性血清の試験を必ず実施してください。

- 1) 対照用陰性血清の反応が、各判定対象バンド（p 1 9、p 2 4、p 5 3、g p 4 6）とも発色していないことを確認してください。
- 2) 対照用強陽性血清および対照用弱陽性血清の反応が陽性基準に一致していることを確認してください。

■測定結果の判定法

1. 判定

“プロットHTLV-I”の判定は、HTLV-I 抗原特異タンパクに対する抗体の有無を目視で判読した後、判定基準に従って判定してください。

- 1) 判定対象バンドは、p 1 9、p 2 4、p 5 3およびg p 4 6の4種類です。
- 2) これら4種類のバンドの発色の強さを以下の基準に従い3段階評価（－、±、＋）で判読してください。
 - （－）：バンドが認められない。
 - （±）：僅かに発色しているが、対照用弱陽性血清g p 4 6のバンドより薄く確実性に乏しい。
 - （＋）：バンドが認められ、対照用弱陽性血清g p 4 6のバンドと同等以上の発色を示す。
- 3) 判定
 - 陽性：エンヴタンパク（g p 4 6）のバンドが（＋）として認められ、かつギャグタンパク（p 1 9、p 2 4、p 5 3）のうち一つ以上のバンドが（＋）として認められる。
 - 陰性：各判定対象バンド（p 1 9、p 2 4、p 5 3、g p 4 6）は、全く認められない。
 - 保留：陰性および陽性の判定基準に一致しない。

2. 判定上の注意

- 1) 各判定対象バンド（p 1 9、p 2 4、p 5 3、g p 4 6）以外のバンドは、判定に関与しません。
- 2) 本試薬でHTLV-I 抗体が陽性と判定されてもただちにATLあるいはHAMであるとは診断できません。ATLあるいはHAMの診断にあたっては、他の検査法（血液形態学的検査法、血清学的検査法など）を実施し、さらに臨床症状を加味して総合的に判断してください。
- 3) 本試薬で判定が保留の場合は、原理の異なる複数の検査法を実施しできる限り経時的に検査し、臨床症状を加味して総合的に判断してください。
- 4) 本試薬により陰性と判定された場合でも、HTLV-I の感染を完全に否定できません。特にHTLV-I 感染初期では、抗体が産生されなかったり、産生されていても抗体の量が少ない場合があります。感染が疑われる場合には本試薬の判定結果が陰性であっても、経時的に検査し、また、他の検査（抗原検査、細胞性免疫学検査など）結果、臨床症状を加味して総合的に判断してください。

■臨床的意義

HTLV-I 抗体はヒトT細胞白血病ウイルスHTLV-I（Human T cell Leukemia Virus type I）に対する抗体であり、成人T細胞白血病（ATL）やHAM（HTLV-I associated myelopathy）の診断補助、母子感染や供血者スクリーニング検査などに有用です。本試薬は、HTLV-I に対する特異抗体を検出する試薬であり、スクリーニング検査で陽性と判定された検体の確認検査に用います。

■性能

1. 性能

- 1) 感度
キットに添付の対照用陰性血清および対照用弱陽性血清を試料として所定の操作で試験するとき、対照用陰性血清ではバンドの発色を認めず、対照用弱陽性血清では少なくともp 5 3およびg p 4 6のバンドに発色が認められます。
- 2) 正確性
自家管理検体を試料として所定の操作で試験するとき、規格の陰性または陽性の反応を示します。
- 3) 同時再現性
同一検体を用いて所定の操作で3回繰り返し試験するとき、各バンドとも同一の反応を示します。

2. 臨床性能試験成績

本品の臨床性能試験成績より、判定対象バンドの陽性率および臨床的感度/特異性について、下表の成績が得られました（文献1、2）。

表. 判定対象バンドの陽性数（率）

症 例	例 数	gag			env
		p19 (%)	p24 (%)	p53 (%)	gp46 (%)
HTLV-I 抗体陰性群	194	10 (5.2)	15 (7.7)	1 (0.5)	0 (0)

HTLV-I 抗体陽性群	273	272 (99.6)	264 (96.7)	261 (95.6)	239 (87.5)
A T L 患 者 群	107	106 (99.1)	106 (99.1)	104 (97.2)	91 (85.0)
H A M 患 者 群	41	41 (100)	39 (95.1)	39 (95.1)	38 (92.7)
キ ャ リ ア 群	125	125 (100)	119 (95.2)	118 (94.4)	110 (88.0)

表. 臨床的特異性および臨床的感度

症 例	例 数	判定結果			臨床的特異性 および感度
		陽性 (%)	保留 (%)	陰性 (%)	
HTLV-I 抗体陰性群	194	0 (0)	25 (12.9)	169 (87.1)	87.1% ¹⁾
HTLV-I 抗体陽性群	273	243 (89.0)	30 (11.0)	0 (0)	89.0% ²⁾

- 1) 臨床的特異性 : (検査陰性数 / 陰性症例数) × 100 (%)
- 2) 臨床的感度 : (検査陽性数 / 陽性症例数) × 100 (%)

■使用上又は取扱い上の注意

1. 取扱い上（危険防止）の注意

- 1) 抗原転写ニトロセルロース膜や、対照用強陽性血清、対照用弱陽性血清、対照用陰性血清の廃棄に際しては、オートクレーブによる処理などHBVと同様の処理を行った後廃棄してください。
- 2) 検体中には、HBV、HCV、HIVなどが存在する場合がありますので、検体の取扱いには十分注意してください。また、使用した器具（ビペット、試験管など）、廃液、チップなどは次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度1,000ppm、1時間以上浸漬）、グルタルアルデヒド（2%、1時間以上浸漬）などによる消毒の他、オートクレーブ処理（121℃、1時間以上）による滅菌や焼却などの処理を行ってください。
- 3) 抗原転写ニトロセルロース膜中に含まれるHTLV-I 抗原タンパク成分は不活化処理されておりますが、万全を期する意味でHBVなどと同様に十分な取扱い管理を行ってください。
- 4) 本試薬は保存剤として以下のとおり、アジ化ナトリウムを含有しています。廃棄する際には爆発性の金属アジドが生成されないよう多量の水で流してください。
血清希釈用液；0.1%、対照用強陽性血清；0.1%、
対照用弱陽性血清；0.1%、対照用陰性血清；0.1%、
ビオチン標識抗ヒトIgG抗体；0.025%（調製時）
- 5) 試薬が誤って目や口に入った場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当等を受けてください。

2. 使用上の注意

- 1) 本試薬は検体中のHTLV-I 特異抗体を検出する試薬でHTLV-I を直接検出する試薬ではありません。
- 2) キット内の試薬は正確な反応が得られるように組み合わせてありますので、製造番号の異なる試薬を組み合わせず使用しないでください。
- 3) キット内の試薬は凍結しないように注意してください。

3. 廃棄上の注意

試薬および容器などを廃棄する場合には、廃棄物に関する規程に従って、医療廃棄物または産業廃棄物等区別して処理してください。

■貯蔵方法・有効期間

1. 貯蔵方法

- 2～10℃に保存してください。

2. 有効期間

製造後1年（外箱および容器の表示をご覧ください。）

■包装単位

- 14ストリップ×2枚（Code No.：204450）
- 別売品：プロット用のトレイ（Lストレイ Code No.：305324）

■主要文献

- 1) 福岡直美、他：ウエスタンブロット法“プロブロット HTLV-I”による HTLV-I 抗体の測定、臨床検査 36：193～196, 1992
- 2) 上平 憲、他：ウエスタンブロット法「プロブロット HTLV-I」による抗 HTLV-I の測定、臨床とウイルス、21：73～76, 1993
- 3) Miyakoshi H, et al: Improvement of Simultaneous Detection of Antibodies to Gag and Envelope Antigens of Human T-lymphotropic Virus Type I by Western Blot Assay. J. Clin.Microbiol, Vol.30, No.10: 2555-2559, 1992.

* ■問い合わせ先

富士レピオ株式会社 お客様コールセンター
TEL：0120-292-832
FAX：03-5695-9234

